Soroterapia e vacinação na espiroquetoze das galinhas

PELO

Dr. Henrique de Beaurepaire Aragão,

Assistente.

Sorotherapie und Schutzimpfung bei der Hühnerspirochætose

VON

Dr. Henrique de Beaurepaire Aragão,

Assistenten am Institute.

I

SOROTERAPIA.

Contribuição para o tratamento soroterapico nas molestias produzidas por germens não cultivaveis.

Com o dezenvolvimento adquirido pela soroterapia, aumenta, cada dia, o numero de molestias contra as quais se procura obter soros especificos eficazes. Nos processos morbidos, que têm por fator etiolojico um germen cultivavel, a tecnica a empregar para o preparo dos soros não oferece grandes dificuldades; o mesmo porém, já não acontece quando se aborda o problema da soroterapia nas molestias produzidas por germens não cultivaveis. Nestas, o unico processo que se nos oferece para imunizar o animal consiste em inoculal-o com os microbios retirados do organismo infetado, de mistura com os ele-

I

SEROTHERAPIE.

Beitrag zur Serotherapie der Krankheiten, welche durch unkultivierbare Keime erzeugt werden.

In Folge der Entwicklung der Serotherapie erfährt die Zahl der Krankheiten, gegen welche wirksame spefizifische Sera gesucht werden, eine tägliche Vermehrung. Bei den Prozessen, welche durch kultivierbare Keime verursacht werden, bietet die Technik für die Herstellung der Sera keine grossen Schwierigkeiten; dagegen ändert sich dies, wenn man das Problem der Serotherapie bei solchen Krankheiten angeht, welche durch nicht kultivierbare Keime hervorgerufen werden. Hier ist das einzige Verfahren, welches die Immunisierung des Tieres ermöglicht, die Einimpfung der Mikrobien, welche dem infizierten Organismus entstammen, zugleich mit den Zellelementen, von welchen sie sich in der Praxis nicht trennen lassen. Da jedoch,

mentos celulares, dos quais é impossivel, praticamente, separal-os. Como, porém, a inoculação de celulas de um animal em outro de especie diversa dá lugar a elaboração, no organismo deste, a citotoxinas especificas contra as celulas que lhe são injetadas, é de prever que o soro, preparado, como acima nos referimos, de acordo com a tecnica habitual, aprezentará, ao lado das provaveis propriedades terapeuticas, uma ação citotoxica acentuada e portanto será de emprego pouco recomendavel *in vivo*, onde iria cauzar lezões celulares profundas, senão mortais, no animal com elle injetado. Tem sido este o grande obice á soroterapia nas molestias produzidas por germens não cultivaveis. Diante delle têm recuado muitos pesquizadores, como THEILER (1905), KOCH, MARCHOUX e SIMOND (1906), os quais tentando a imunização contra tais germens, tiveram ocazião de observar os dezastrosos efeitos dos soros obtidos, devido á intensa ação citotoxica deles. Ora, se o grande inconveniente dos soros preparados contra os germens não cultivaveis pela inoculação do animal com a mistura de celulas e microbios, está na formação de toxinas contra as celulas do organismo, em que eles devem ser empregados, porque não impedir a elaboração de tais citotoxinas no organismo submetido a imunização? Os conhecimentos atuais sobre a imunidade, de acordo com a escola de EHRLICH, oferecem ao problema uma solução facil, lojica e do maior rigor cientifico.

A produção de anticorpos, nos ensina a teoria de EHRLICH, está em relação com a fixação aos receptores celulares do organismo de certas substancias, toxicas ou não, que, se ligando a elles, os inutilizam e provocam a sua rejeneração em excesso, donde o desprendimento de numerozas dessas cadeias laterais do protoplasma e a sua passajem para o plasma. Nestas circumstancias, desde que se torne impossivel aquella combinação, faltará, *ipso facto*, a condição essencial, para que a produção de anticorpos tenha logar.

O meio eficaz e absolutamente racional,

wenn man Zellen eines Tieres einem andern von verschiedener Art einverleibt, in diesem spezifische Cytotoxine gebildet werden, so ist vorauszusehen, dass ein nach der gewöhnlichen Technik hergestelltes Serum neben den zu erwartenden therapeutischen Eigenschaften auch eine ausgesprochene cytotoxische Wirkung haben werde und daher seine Anwendung *in vivo* wenig zu empfehlen wäre, da es beim Versuchstiere eine ausgedehnte und möglicherweise tötliche Zellschädigung bewirken würde. Dies ist das grosse Hindernis für die Serotherapie der durch unkultivierbare Keime hervorgerufenen Krankheiten, vor welchem viele Forscher, wie THEILER (1905), KOCH, MARCHOUX und SIMOND (1906), zurückschrekten, da sie bei dem Versuche einer solchen Immunisation Gelegenheit hatten, die in Folge starker cytotoxischer Eigenschaften verhängnisvolle Wirkung der erhaltenen Sera zu beobachten. Wenn nun aber der grosse Uebelstand solcher Sera, welche durch Einimpfung von Zellen und unkultivierbaren Mikrobien erhalten werden, in der Bildung von spezifischen Giften für die Zellen des zu vaccinierenden Tieres beruht, warum soll man nicht die Bildung solcher Zellgifte in dem zu immunisierenden Organismus verhindern? Unsere gegenwärtigen Kenntisse über die Natur der Immunität gestatten uns, im Einklange mit der EHRLICHschen Schule eine einfache, logische und streng wissenschaftliche Lösung dieses Problemes.

Wie die EHRLICHsche Theorie lehrt, hängt die Bildung der Antikörper ab von der Fixation gewisser toxischer oder ungiftiger Substanzen auf den Zellrezeptoren des Organismus, welche sich mit denselben verbinden und sie neutralisieren, wobei sie die Bildung neuer veranlassen und zwar im Ueberschusse, so dass sich viele solche Seitenketten vom Protoplasma ablösen und ins Plasma übergehen. Wenn aber unter derartigen Umständen diese Verbindung unmöglich wird, so fehlt, *ipso facto*, die notwendige Bedingung für die Produktion der Antikörper.

Das wirksame und ganz rationelle

que se nos oferece para conseguir este rezultado, consiste em introduzir no organismo a substancia, capaz de provocar nelle a formação de anticorpos citotoxicos, levando preza ao grupo haptoforo, um receptor identico, ao da celula, a que ella normalmente se fixa.

Desta forma, satisfeita a afinidade desse grupo, cessa o motivo, para que elle se fixe ao receptor celular e, por conseguinte, dezaparece a condição essencial, para que se dê a reação de imunização. A introdução no organismo de receptores, livres ou prezos a celulas, porém levando satisfeita a sua afinidade para as celulas desse organismo, pela saturação dellas pelos seus anticorpos correspondentes, impede a reação de imunização, como cabalmente provam os trabalhos de RHENS, injetando em animais misturas de toxinas e antitoxinas, os de NEISSER e LUBOWSKI (1901) inoculando bacilos saturados por aglutininas ou então por bacteriolizinas como fizeram PFEIFER e FRIEDBERGER (1902) e finalmente as interessantes pesquizas do DUNGERN (1900) e SACHS (1901) com globulos saturados por hemolizinas.

Estas demonstrações são de extraordinario valor pela segura orientação que dão ao problema da soroterapia nas molestias produzidas por germens não cultivaveis. De fato, nestas temos a injetar no organismo do animal, em que se quer preparar o soro, os microbios produtores da molestia e, juntamente com estes, as celulas ou receptores livres, que acompanham esses microbios e que, introduzidas no organismo do animal sem prévia saturação do seu poder imunizante, irão nelle provocar a formação de citotoxinas prejudiciais ao organismo do animal, em que o soro tiver de ser empre-

Mittel für die Erreichung dieses Resultates besteht darin, dass man dem Organismus eine Substanz einverleibt, welche befähigt ist, in demselben die Bildung von Antikörpern für die Cytotoxine zu veranlassen, indem sie mit der haptophoren Gruppe verankert, einen Rezeptor führt identisch mit demjenigen der Zelle, an welche sie, normaler Weise, gebunden ist.

Wird auf diese Weise die Affinität dieser Gruppe befriedigt, so fällt die Tendenz sich am Zellrezeptor zu fixieren weg und hiermit zugleich die wesentliche Bedingung einer Immunisationsreaktion. Führt man in einen Organismus freie oder an eine Zelle gebundene Rezeptoren ein, deren Affinität für die Zellen dieses Organismus jedoch bereits durch die entsprechenden Antikörper gesättigt ist, so wird eine Immunisationsreaktion unmöglich gemacht; es geht dies aufs deutlichste aus den Arbeiten von RHENS, hervor, welche Tieren Mischungen von Toxinen und Antitoxinen injizierten, sowie aus denjenigen von NEISSER und LUBOWSKI (1901), welche mit Agglutininen gesättigte Bazillen einführten oder denjenigen von PFEIFFER und FRIEDBERGER (1902), bei welchen die Sättigung mit Bakteriolysinen stattfand und endlich aus den interessanten Versuchen von v. DUNGERN (1900) und SACHS (1901) mit durch Hämolysine gesättigten Blutkörperchen.

Diese Ergebnisse sind von ganz besonderem Werte, weil sie dem Probleme der Serotherapie der durch nicht kultivierbare Keime hervorgerufenen Krankheiten eine sichere Orientierung geben. In der Tat müssen wir bei diesen den für die Herstellung des Serums dienenden Tieren die Krankheitserreger und zugleich mit ihnen die Zellen oder freien Rezeptoren, welche die Keime begleiten, einspritzen; würden diese dem tierischen Organismus ohne vorherige Sättigung ihrer immunisierenden Eigenschaften einverleibt, so würden sie bei diesem die Bildung von Cytotoxinen herbeiführen, welche für den Organismus des Tieres, bei dem das Serum angewandt werden soll, nachteilig sein.

gado. Como proceder a saturação desses receptores celulares?

Nenhuma dificuldade oferece a tecnica a empregar para se obter esse rezultado. Provoca-se a formação de anticorpos contra essas celulas em outro animal, inoculando-o com os mesmos elementos celulares, retirados dum animal são, e assim obtem-se naquelle, um soro carregado dos anticorpos necessarios á saturação dos receptores das celulas, quando em companhia dos microbios, tornando-se apenas necessario juntal-o, a mistura de celulas e microbios, em quantidade necessaria, para que todos os receptores celulares fiquem saturados por esses anticorpos. Uma vez conseguido isto, pode-se, sem perigo, injetar a mistura de microbios e celulas, com os receptores saturados, no organismo a imunizar contra aquelles, pois sob o ponto de vista da reação de imunização, nella provocada, tal mistura se comportará como se apenas nella existissem microbios, só contra estes se formando anticorpos.

Foi servindo-nos desta tecnica, que conseguimos alcançar os rezultados praticos dezejados e, em todos os pontos, confirmativos das nossas vistas teoricas sobre a questão.

Determinado o processo a seguir, restava escolher a molestia, em condições de servir ás experiencias que iamos tentar, para demonstrar praticamente suas vantajens.

Nenhuma se aprezentava em melhores condições para as pesquizas, que iamos executar, do que a espiroquetoze das gallinhas, destruidora epizootia, muito comum entre nós, e que, com facilidade, se pode reproduzir no laboratorio. O germen desta molestia, o *spirochaete gallinarum*, é muito abundantemente encontrado, no sangue dos animais infetados, durante um certo periodo da molestia e, praticamente, pode ser considerado um germen não cultivavel.

Wie soll man bei der Sättigung dieser Zellenrezeptoren verfahren? Die Technik, welche zur Erreichung dieses Resultates angewandt wird, bietet keine Schwierigkeiten.

Man veranlasst die Bildung von Antikörpern gegen diese Zellen, indem man dieselben Zellelemente einem gesunden Tiere entnimmt und sie einem anderen Tiere einverleibt; so erhält man bei diesem ein Serum, welches mit den, zugleich mit den Mikrobien eingeführten, zur Sättigung der Zellrezeptoren nötigen Antikörpern beladen ist; man braucht es dann nur der Mischung von Zellen und Mikrobien in der nötigen Menge zuzusetzen, damit alle Zellrezeptoren durch diese Antikörper gesättigt werden. Ist dies einmal erreicht, so kann man die Mischung von Microbien und Zellen mit gesättigten Rezeptoren ohne Gefahr dem zu immunisirenden Organismus einspritzen, da eine solche Mischung in Beziehung auf die Auslösung einer Immunisationsreaktion sich so verhält, als ob in derselben nur Mikrobien existierten, gegen welche sich dann auch Antikörper bilden.

Indem ich diese Technik befolgte, gelang es mir die gewünschten praktischen Resultate zu erzielen, welche Punkt für Punkt die theoretischen Anschauungen in dieser Frage bestätigten.

Nachdem das zu befolgende Verfahren festgestellt war, blieb mir noch übrig eine Krankheit auszuwählen, welche zu den Versuchen dienen könnte, welche den praktischen Nachweis der Vorzüge dieses Verfahrens erbringen sollten. Keine bot für diese Versuche bessere Bedingungen, als die Hühnerspirochätose, eine hierzulande häufige, verheerende Epizootie, welche sich zudem auch im Laboratorium leicht übertragen lässt. Der Erreger derselben, die *Spirochaete gallinarum* wird während einer bestimmten Krankheitsperiode in grosser Zahl im Blute der infizierten Tiere gefunden und kann in praktischer Hinsicht als unkultivierbarer Keim gelten. Als Serum-

Como animais productores de soro nos servimos de cabras. Um primeiro grupo destes animais foi destinado a fornecer o soro hemolitico que necessitavamos para saturar os receptores dos eritrocitos retirados do animal infetado, juntamente com os espiroquetes, e que, ao mesmo tempo que estes, deviam ser inoculados no animal a imunizar contra tais parazitos.

Um outro grupo de animais foi apenas inoculado com sangue desfibrinado de galinha infetada com espiroquetes, sem preparo previo algum (servindo assim de dupla testemunha para os inoculados com sangue do animal infetado, porém levando os receptores globulares saturados pela hemolizina especifica) comparando-se entre elles não só o poder hemolitico como o imunizante adquirido.

Finalmente, o terceiro grupo de animais foi utilizado para o preparo do soro imunizante, não hemolitico, pela inoculação, nestes animais, de sangue de galinha infetada, de mistura ao soro hemolitico, necessario á saturação de todos os receptores dos eritrocitos.

Cabem, agora, aqui algumas palavras sobre a tecnica, empregada para a obtenção dos diferentes soros, cujos detalhes mais minuciozos se encontram em outro trabalho nosso (1905), não havendo motivo, por isso, para reproduzil-os todos aqui.

Para o preparo do soro simplesmente hemolitico, de que necessitavamos para a saturação dos receptores globulares, fizemos, nas cabras, repetidas inoculações subcutaneas de sangue desfibrinado, ocilando a quantidade de cada vez entre 20 a 60 cc. Depois de cada um desses animais ter recebido em sucessivas inoculações 80 a 100 cc. de sangue o seu soro aprezentava forte poder hemolitico, que se mantinha mais ou menos igual, repetindo as inoculações com 10 a 20 dias de intervalo.

O soro de cabra, já normalmente hemolitico para o sangue de galinha (na proporção de 0,24 cc. para 2 cc. de uma sus-

produzenten verwandte ich Ziegen und zwar wurde die erste Gruppe dieser Tiere zur Lieferung des hämolytischen Serums bestimmt. Letzteres brauchte ich für die Sättigung der Rezeptoren der Erithrocyten, welche den infizierten Tieren zugleich mit den Spirochäten entnommen wurden, um mit diesen zusammen dem zu immunisierenden Tiere eingespritzt zu werden. Eine zweite Gruppe dieser Tiere wurde nur mit defibriniertem Blute von an Spirochätose leidenden Hühnern ohne weiteren Zusatz geimpft, um auf diese Weise in doppelter Weise als Zeugen zu dienen für diejenigen, welche mit infiziertem Blute, dessen Zellrezeptoren aber durch spezifische Hämolysine gesättigt waren, vorbehandelt wurden. Es wurde dann bei beiden Gruppen nicht nur die erworbene Immunität verglichen. Die dritte Gruppe wurde endlich bei der Herstellung des nicht hämolytischen Immunserums verwandt, indem den Tieren infiziertes Hühnerblut mit einem zur Sättigung aller Rezeptoren der Erythrocyten genügenden Zusatze von hämolytischem Serum eingespritzt wurde.

Hier sind einige Bemerkungen am Platze betreffs der Technik, welche zum Zwecke der Gewinnung der verschiedenen Sera befolgt wurde; die genaueren Einzelheiten finden sich in einer anderen Arbeit von mir (1905) und brauchen daher hier nicht wiedergegeben zu werden.

Für die Herstellung des einfachen hämolytischen Serums, dessen ich zur Sättigung der Blutkörperchenrezeptoren bedurfte, machte ich den Ziegen wiederholt Einspritzungen von defibriniertem Blute, dessen Menge jeweilen zwischen 20 und 60 cbcm. schwandkte. Bei jedem Tiere, welches in wiederholten Einspritzungen 80—100 cc. erhalten hatte, zeigte das Serum hochgradige hämolytische Eigenschaften, welche sich ziemlich gleich blieben, wenn die Einspritzungen in Zwischenräume von 10—20 Tagen wiederholt wurden.

Das Ziegenserum ist für Hühnerblut schon normalerweise hämolytisch bis zu einem Verhältnisse von 0,24 zu 2 cbcm.

pensão a 5 % em agua fiziolojica (Nacl, 0,85 %) de globulos de galinha, adquire apóz o tratamento acima descrito um poder dissolvente, em média, 6 vezes mais intenso, o que o torna praticamente utilizavel para a saturação dos receptores globulares. O soro homolitico aprezenta, comparativamente ao normal, um poder toxico muito mais acentuado. Com uma inoculação de 2 a 3 cc. delle, por via endovenoza, se consegue matar um frango de 600 gramas em menos de 12 horas; ao passo que, com o soro normal, o mesmo rezultado só é obtido com dózes de 6 a 8 cc. Nos animais, que sucumbem á ação do soro, é muito patente a aglutinação e a dissolução das hematias; esta tanto mais vizivel, quanto mais demorada fôr a morte do animal.

Agora, vejamos os animais inoculados com espiroquetes: dividem-se estes em dois grupos; porém, em cada um, só foi levado a cabo a imunização de um animal; os demais, muito novos ainda e pouco rezistentes, sucumbiram ou foram abandonados durante a imunização em consequencia das fortes reações, provocadas pelas inoculações com grandes quantidades de sangue com espiroquetes.

A imunização com sangue infetado foi feita por via subcutanea, recebendo os animais de cada vez 50 cc. de sangue desfibrinado, que era obtido pela sangria de diversas galinhas doentes, no decurso do 4.° a 5.° dia da molestia, quando são muito abundantes no seu sangue os parazitos. Essas galinhas eram infetadas pela inoculação do sangue de um frango que adquirira a molestia pela picada de *argas*.

Tanto o animal, simplesmente inoculado com sangue infetado, sem preparo algum, como aquelle, em que os globulos eram saturados pelas hemolizinas, receberam, cada um, a mesma quantidade de sangue, 250 cc., em 5 inoculações, espaçadas por cerca de 4 mezes. Foram assim, tanto quanto possivel, colocados nas mesmas condições.

einer 5 % Suspension in physiologischer Lösung (0,85 % Na. Cl.). Nach der oben beschriebenen Behandlung erwirbt es ein, im Mittel, sechsmal stärkeres Auflösungsvermögen, wodurch es für die Sättigung der Blutkörperchenrezeptoren praktisch brauchbar wird. Mit dem normalen verglichen, bietet das hämolytische Serum viel ausgesprochenere toxische Eigenschaften. Die intravenöse Einführung von 2—3 cbcm. desselben führt den Tod eines Huhnes von 600 Gramm in weniger als 12 Stunden herbei, während zur Erreichung desselben Effectes 6—8 cc. von normalem Serum nötig sind. Bei den Tieren, welche der Serumwirkung erliegen, ist die Agglutination und Auflösung der Hämatien sehr evident, letztere um so mehr, je länger sich der Tod des Tieres verzögert.

Gehen wir jetzt zu den mit Spirochäten geimpften Tieren über, so teilen sich dieselben in zwei Grupen; doch wurde in jeder derselben nur bei einem Tiere die Immunität zu Ende geführt. Die anderen, welche noch sehr jung oder wenig widerstandfähig waren, erlagen oder wurden während der Immunisierung aufgegeben, weil die Einspritzung gröserer Mengen spirochätenhaltigen Blutes starke Reaktionen hervorrief.

Die Immunisierung mit infiziertem Blute geschah auf subkutanem Wege, indem jedes Tier auf einmal ca. 50 cbcm. defibrinierten Blutes, welches verschiedenen Hühnern entnommen wurde und zwar am vierten bis fünften Krankheitstage, da alsdann die Spirochäten im Blute sehr zahlreich sind. Diese Hühner waren durch Einspritzung von Blut eines in Folge des Bisses von Argaszecken erkrankten Hühnchens infiziert worden.

Sowohl das Tier, dem ohne weiteren Zusatz nur infiziertes Blut eingespritzt wurde, wie dasjenige bei dem die Blutkörperchenrezeptoren durch Hämolysin gesättigt worden waren, erhielten jedes 250 cbcm. in 5 Einspritzungen, welche über 4 Monate verteilt waren. So befanden sie sich, soviel wie möglich, in gleichen Verhältnissen.

Assim, a cabra inoculada com o sangue infetado, não preparado, que nós designaremos pelas letras B. S., recebeu, de cada vez, a quantidade de sangue desfibrinado, acima mencionada, sem preparo algum.

Muito diversa foi a tecnica, empregada na cabra D. S., em que procuramos obter o soro, antiespiroquetico, porém não dotado de propriedades hemoliticas. Este animal recebeu, durante o periodo em que esteve submettido á imunização, a mesma quantidade de sangue, que o precedente. isto é, 250 cc. em 5 injeções; apenas o material, neste cazo, só era inoculado, depois de se ter completamente saturado os receptores dos globulos vermelhos, nelle existentes.

A tecnica empregada para obter a completa saturação dos receptores foi a seguinte: Tomavamos a quantidade de sangue, com espiroquetes, a injetar (50 cc.) e a ella juntavamos uma doze de soro hemolitico fresco, 5 vezes superior á necessaria para dissolver completamente os globulos; pois é sabido que existe grande diferença entre a quantidade de hemolizina, necessaria para dissolver completamente um certo numero de globulos, e a suficiente para saturar completamente os receptores delles. Essa mistura de sangue infetado e soro hemolitico era colocada na estufa a 37° durante 2 horas. No fim deste prazo, nós procuravamos verificar, se na mistura havia ainda hemolizinas livres, indicando portanto a completa saturação dos recpetores globulares. Para isso tomavamos uma pequena quantidade, 0,05 cc., da mistura em questão e a juntavamos a uma suspensão a 5 % de globulos de galinha, em preZença de 0,1 cc. de soro normal fresco de cabra, como fornecedor de alex'na. Se os globulos eram dissolvidos apóz cerca de $^1/_2$ hora de estufa a 37, era sinal de que, na mistura de sangue de galinha infetada com espiroquetes e soro de cabra hemolitico para galinha, todos os receptores globulares estavam saturados e ainda havia um excesso de hemolizinas livres. Quando,

So erhielt die mit dem hämolytischen Blutte, ohne Zusatz, behandelten Ziege, die ich mit den Buchstaben B. S. bezeichne, jedesmal das oben angegebene Quantum defibrinierten Blutes ohne Vorbereitung

Sehr verschieden war dagegen die befolgte Technik bei der Ziege D. S., bei welcher ich ein Antispirochäten Serum ohne hämolytische Eigenschaften zu erhalten suchte. Dieses Tier erhielt in der Zeit, während welcher es der Immunisation unterworfen wurde, dieselbe Blutmenge, wie das vorhergehende, nämlich 250 cbm., in 5 Injektionen; nur wurde das Material, in diesem Falle erst eingespritzt, nachdem die in demselben enthaltenen Rezeptoren der roten Blutkörperchen vollkommen gesättigt waren.

Um die vollständige Sättigung der Rezeptoren herbeizuführen, befolgte ich folgendes Verfahren: Ich nahm das zur Einspritzung bestimmte Quantum spirochätenhaltigen Blutes (50 Cbcm.) und setzte demselben das hämolytische Serum und zwar in einer fünfmal grösseren Menge, als zur vollständigen Lösung der roten Blutkörperchen nötig war. Man weiss ja, dass zwischen der Hämolysinmenge, welche zur vollständigen Auflösung einer bestimmten Zahl von Blutkörperchen nötig ist, und derjenigen, welche zur vollständigen Sättigung der Rezeptoren genügt, ein grosser Unterschied besteht. Diese Mischung von infiziertem Blute und hämolytischem Serum wurde 2 Stunden in einem Brutschranke bei 37 Grad gehalten. Nach Ablauf dieser Zeit versuchte ich festzustellen, ob in der Mischung noch freie Hämolysine existierten, was eine vollständige Sättigung der Blutkörperchenrezeptoren anzeigen musste. Zu diesem Zwecke nahm ich von der fraglichen Mischung eine kleine Menge, 0,05 cc., und mischte sie mit einer 5 % Suspension von Hühnerblutkörperchen, in Gegenwart von 0,1 Cbcm. frischen Ziegenblutes, welches das Alexin lieferte. Wurden die Blutkörperchen binnen einer halben Stunde im Brutschranke aufgelöst, so zeigte dies, dass in der Mischung von Spirochäten, Hühnerblut und für das

porém, a mistura se mostrava incapaz de dissolver novos globulos (indicando a auzencia de amboceptores hemoliticos livres), juntava-se nova quantidade de soro hemolitico e faziam-se as mesmas verificações, quanto á prezença de hemolizinas, depois de novo periodo de 1 hora na estufa. Algumas vezes, foi precizo recorrer á quantidade de soro hemolitico, 10 vezes superior á necessaria, para dissolver completamente os globulos.

Somente, quando, na mistura de globulos, espiroquetes e soro hemolitico, nós verificamos a prezença do excesso de hemolizinas livres, é, que a injetavamos no animal.

Apezar de introduzirmos, por esse modo, de cada vez, no organismo do animal, submettido á imunização, uma certa quantidade de hemolizinas livres, a imunização passiva, que adquiria o animal por conta da inoculação dessas hemolizinas, era bastante insignificante e della não restavam vestijios por ocazião das sangrias, feitas 12 a 15 dias depois a injeção da mistura de sangue com espiroquetes e soro hemolitico; sendo portanto esse prazo suficiente para fazer dezaparecer do organismo as hemolizinas livres, estranhas, nelle injetadas.

Esta tecnica de supersaturação dos receptores globulares (que julgamos a que deve ser empregada em todas as imunizações contra germens não cultivaveis) nos conduziu ao mais completo rezultado. O soro da cabra D. S., apóz o prazo necessario para a imunização, não aprezentava, sob o ponto de vista hemolitico, propriedades toxicas, superiores ás que tem normalmente o soro de cabra para os globulos de galinha, e, no ponto de vista terapeutico, nenhuma diferença mostrava em comparação ao da cabra B. S., sómente inoculada com o sangue infetado não preparado.

Assim, anteriormente á imunização, o soro da cabra D. S. dissolvida 2 cc. de uma suspensão, a 5 % de globulos de galinha, na dóze de 0,24 cc.; esse poder hemolitico

letztere lytisch wirkendem Ziegenblute alle Rezeptoren gesättigt waren und noch ein Ueberschuss von freiem Hämolysin existierte. Zeigte sich dagegen die Mischung unfähig, in Folge Abwesenheit freier hämolytischer Ambozeptoren, neue Blutkörperchen aufzulösen, so fügte ich ein neues Quantum hämolytischen Serums hinzu und machte, nach weiterem einstündigem Aufenthalte im Brutschrank, eine neue Bestimmung. Einige Male war es nötig, eine Dosis hämolytischen Serums anzuwenden, welche zehnmal mehr betrug, als das zur vollständigen Lösung der roten Blutkörperchen nötige. Erst, wenn ich in der Mischung von Blutkörperchen, Spirochäten und hämolytischem Serum die Gegenwart eines Ueberschusses von freiem Hämolysin festgestellt hatte, wurde diesselbe dem Tiere eingespritzt.

Obgleich ich auf diese Weise jedesmal eine gewisse Menge von freien Hämolysinen in den Organismus des zu immunisierenden Tieres einführte, so war doch die passive Immunisation, welche das Tier durch dieselbe erfuhr, ziemlich gering und es zeigte sich von derselben bei den 12—15 Tage später gemachten Aderlässen keine Spur mehr, so dass diese Frist genügt, um die injizierten Hämolysine aus dem Organismus verschwinden zu lassen.

Diese Technik der Uebersättigung der Globularrezeptoren, von der ich glaube, dass sie bei allen Immunisationen gegen nicht kultivierbare Keime gebraucht werden sollte, führte zu einem vollen Erfolge. Nach der zur Immunisierung nötigen Frist, zeigte das Serum der Ziege D. S. in Beziehung auf Hämolyse nicht ausgesprochenere Giftwirkungen, als sie das Ziegenserum normalerweise für Hühnerblutkörperchen zeigt und andererseits in therapeutischer Hinsicht keinen Unterschied beim Vergleiche mit demjenigen der Ziege B. S., welche nur mit infiziertem Blute ohne Zusatz behandelt worden war.

So löste vor der Immunisierung das Serum der Ziege D. S. 2 Cc. einer 5%igen Suspension von Hühnerblutkörperchen in der Dose von 0,24 Cc.;

não aprezentou alteração alguma, quer durante, quer apóz o tratamento. Empregado *in vivo* por via intravenoza, o soro desse animal só se mostrou toxico, para um frango de cerca de 600 gramas, na dóze de 6 a 8 cc., comportando-se assim, como o soro normal de cabra, ao passo, que o soro da cabra B. S., sómente inoculada com o sangue infetado mas não preparado já se mostrava toxico para um animal do mesmo pezo, na dóze de 2 a 3 cc. Injetando-se o soro da cabra D. S., na dóze de 10 cc., por via subcutanea, a um frango de 600 gramas, não se notava nenhuma alteração sensivel na quota globular, ao passo, que os animais inoculados com o soro da cabra B. S., perdiam, apóz uma identica injeção, em 24 horas, na media, 2 milhões de globulos vermelhos por milimetro cubico, devido ao forte poder toxico dess esoro.

São particularmente interessantes, a este respeito, e muito demonstrativos tambem, os rezultados das inoculações intravenozas, feitas com as duas especies de soro, empregando-os no tratamento da infeção, 6 e 18 horas apóz a injeção do germen, e, uzando respectivamente para combatel-a, as dózes de 3 e 5 cc. de soro das cabras B. S. e D. S.

Nestas experiencias, ao passo que os animais tratados com o soro da cabra D. S., não só suportavam perfeitamente as inoculações, como não aprezentavam manifestação alguma da molestia, os tratados, nas mesmas condições, com o soro da cabra B. S. sucumbiram todos ás consequencias da inoculação do soro desse animal, em prazo que ocilou entre 15 minutos e 5 horas (Serie de experiencias expostas nos quadros M. e N.)

Agora, comparemos o valor dos dois soros sob o ponto de vista terapeutico.

Para isso empregamos os dois soros nas mesmas dózes, quer, preventivamente, 24 horas antes da infeção, quer ao mesmo tempo que ella, quer, depois della, até 24 horas apóz a infeção. Estas expe-

dieses hämolytische Vermögen zeigte weder während, noch nach der Behandlung irgend welche Veränderung. In vivo und intrevenös angewandt, zeigte sich dieses Serum für ein Huhn von ca. 600 Gramm erst in einer Dose von 6—8 Cc. toxisch und verhielt sich demgemäss wie normales Ziegenserum, während das Serum der Ziege B. S., die nur mit infiziertem Blute ohne Zusatz geimpft war, sich schon in der Dosis von 2—3 Cc. für ein Tier desselben Gewichtes toxisch zeigte. Injizierte ich 10 Cc. Serum von der Ziege D. S. unter die Haut eines Huhnes von 600 Gramm, so beobachtete man keine deutliche Veränderung in der Zahl der roten Blutkörperchen, während die Tiere, denen Serum der Ziege B. S. eingespritzt wurde, in Folge der hohen Toxicität dieses Serums, schon nach einer Injektion im Mittel 2 Millionen roter Blutkörperchen per Kubikmillimeter einbüssten.

Sehr interessant und demonstrativ sind in dieser Hinsicht auch die Resultate der intravenösen Injektionen, beider Serumarten, welche 6—18 Stunden nach Einspritzung der Keime gemacht wurden; dabei kamen für die Behandlung Dosen von 3 und 5 Ccm. des Serums der Ziegen B. S. und D. S. zur Anwendung.

Während bei diesen Versuchen die mit Serum von Ziege D. S. behandelten Tiere nicht nur die Einspritzungen sehr gut ertrugen, sondern auch überhaupt keine Krankheitserscheinungen darboten, erlagen die in derselben Weise mit Serum von Ziege B. S. behandelten alle den Folgen der Serumeinspritzung und zwar innerhalb einer Frist, die zwischen 15 Minuten und 5 Stunden schwankte. (S. die in Tabellen M und N aufgeführten Versuchsreihen).

Gehen wir jetzt zu dem Vergleiche beider Sera in ihrer therapeutischen Wirkung über. Hier wandte ich die beiden Sera in derselben Dosis an und zwar teils präventiv 24 Stunden vor der Infektion, teils gleichzeitig mit derselben, teils—bis zu 24 Stunden—nach derselben. Diese in zahlreichen Serien und jeweilen an einer grösseren Zahl von Tieren vorgenommenen

riencias feitas em numerozas series e, cada vez, em grande numero de animais, constam dos quadros A a L e demonstram que, sob o ponto de vista, quer curativo, quer preventivo, o valor dos dois soros se mostrou identico, não influindo, portanto, o processo de saturação dos receptores globulares sobre o rezultado da imunização. Nos animais, tratados com dózes elevadas de soro da cabra B. S., foi sempre muito notavel a anemia, proveniente do seu poder toxico para os globulos vermelhos.

Tambem identica se mostrou a ação dos dois soros *in vitro*, ao cabo de meia hora os espiroquetes eram por elles imobilizados sem, comtudo, aprezentarem sinal algum de bacteriolize. Qualquer dos soros, empregados em prazo superior a 24 horas apóz a infeção (de 30 horas em diante), se mostrou sempre ineficaz, mesmo utilizado em dózes elevadas, quer por via subcutanea, quer por intravenoza, (até 40 cc. da cabra D. S.). Como está provado por trabalho de LEVADITI (1904), que a partir de 24 horas os espiroquetes, inoculados no animal, começam a aparecer no sangue periferico, parece ser lojico admittir, em avista dos rezultados obtidos até esse prazo, que o soro só atua, emquanto os espiroquetes se acham nas grandes visceras. Tendo sido as series de animais, tratados apóz 24 horas de infeção, sempre negativas, deixamos de as mencionar em detalhe no prezente trabalho.

Do exposto até aqui, nos parece ficar absolutamente provada a possibilidade da obtenção de soros, a todo o ponto de vista eficazes, no tratamento das molestias, produzidas por germens não cultivaveis, e, ao mesmo tempo, completamente destituidos de propriedades hemoliticos, decorrentes do processo da imunização. Diante dos rezultados obtidos nada se opõe a que á mesma tecnica, que empregamos, seja dado o mais largo uzo na soroterapia das molestias, produzidas por germens não cultivaveis, ampliando-a ás numerozas outras infeções do mesmo genero, contra os quais,

Versuche sind aus den Tabellen A bis L ersichtlich und beweisen den übereinstimmenden Wert beider Sera, sowohl für die Vorbeugung als für die Bekämpfung der Krankheit, so dass der Prozess der Sättigung der Rezeptoren der Blutkörperchen das Resultat der Immunisation nicht beeinflusst. Bei den mit Serum der Ziege B. S. in hohen Dosen behandelten Tieren war die Anämie als Folge seiner Giftigkeit für die roten Blutkörperchen immer sehr auffallend.

Die Wirkung der beiden Sera zeigte sich auch *in vitro* als gleichwertig; nach einer halben Stunde waren die Spirochäten durch ihre Wirkung unbeweglich geworden, ohne jedoch anzeichen von Bakteriolyse zu bieten. Mehr wie 24 Stunden nach der Infektion (von 30 Stunden an) zeigte sich die Anwendung beider Sera immer wirkungslos, sei es, dass sie subkutan, sei es, dass sie intravenös in hohen Dosen (bei Ziege D. S. bis zu 40 Ccm.) angewandt wurden. Da aus der Arbeit von LEVADITI (1904) feststeht, dass eingeimpfte Spirochäten schon nach 24 Stunden im peripherischen Blute der Tiere aufzutreten beginnen, so scheint es, mit Rücksicht auf die bis zu dieser Frist erzielten Erfolge, logisch anzunehmen, dass das Serum nur wirkt, so lange sich die Spirochäten in den Zentralorganen aufhalten. Da die Resultate der Behandlung nach mehr wie 24stündiger Frist seit der Infektion immer negativ waren, unterlasse ich ihre nähere Anführung in dieser Arbeit.

Durch das eben auseinandergesetzte scheint mir unzweifelhaft erwiesen, dass man Sera herstellen kann, welche bei der Behandlung von durch unkultivierbare Keime hervorgerufenen Krankheiten in jeder Hinsicht wirksam und zugleich frei von solchen hämolytischen Wirkungen sind, wie sie durch den Immunisationsprozess hervorgerufen werden. Mit Hinsicht auf diese Resultate liegt kein Grund vor, warum nicht dieselbe Technik in ausgedehnter Weise bei der Serotherapie anderer durch unkultivirbare Keime hervorgerufenen Infektionem benützt werden

até agora, a soroterapia tem estado impotente, devido aos perigos decorrentes do processo de imunização a empregar.

Por outro lado, o nosso trabalho deixa patente o valor da soroterapia na espiroquetoze das galinhas e a possibilidade de, por meio della, não só se poder segura mente prevenir a molestia, como cural-a, até ao periodo de 24 horas apóz a infeção, o que, sob o ponto de vista pratico, tem uma grande utilidade, permitindo que, aos primeiros cazos de infeção em um galinheiro, se ponha a salvo os animais, que ainda se acharem em periodo de incubação do mal.

II

VACINAÇÃO NA ESPIROQUETOZE DAS GALINHAS.

A obtenção de uma vacina contra a espiroquetoze das galinhas tem grande alcance sob o ponto de vista pratico, pois oferece um meio, de se evitar as destruidoras epizootias, tão comuns nos galinheiros, em que existem *argas* infetados e onde tão dificil é a completa destruição, desses acarianos. Essas epizootias se reproduzem a cada nova introdução nesses galinheiros, de aves, vindas de zonas, onde não existe a infeção, e que portanto não gozam de imunidade, adquirida a custa de um ataque anterior não mortal da molestia. Acontecendo que a espiroquetoze das galinhas confere aos animais, que della escapam, notavel imunidade, muito fundadas eram as nossas esperanças de que, introduzindo no organismo de animais não imunes o virus sob uma forma atenuada ou morta, pudessemos obter uma vacina eficaz contra ella.

Naturalmente, aqui, como na soroterapia, se impunha o emprego do sangue de animais infetados, como material para o preparo da vacina.

Morrendo o germen ao cabo de poucos dias no sangue desfibrinado, a primeira idea que vem é a de se empregar esse sangue contendo os germens mortos para a

sollte, wo sich die Wissenschaft wegen der durch die Immunisation veranlassten Gefahren bisher ohnmächtig gezeigt hat.

Auf der anderen Seite erweist meine Arbeit den Wert der Serotherapie bei der Hühnerspirochätose und die Möglichkeit durch jene nicht nur der Krankheit mit Sicherheit vorzubeugen, sondern sie auch bis 24 Stunden nach der Infektion zur Heilung zu bringen, was praktisch von grossem Werte ist, da es so möglich wird, beim ersten Auftreten der Infektion in einem Hühnerstalle alle Tiere zu retten, die sich noch im Inkubationsstadium der Krankheit befinden.

II

VACCINATION BEI DER HÜHNER-SPIROCHÄTOSE.

Die Herstellung einer Vaccine gegen die Hühnerspirochätose hat einen grossen praktischen Wert, da sie uns ein Mittel zur Verhütung verheerender Epizootien bietet, wie sie so häufig in Hühnerhöfen sind. wo infizierte Argas vorkommen, deren vollständige Ausrottung sehr schwierig ist. Diese Seuchen wiederholen sich jedes Mal, wenn in solche Hühnerhöfe Tiere gebracht werden, welche aus infektionsfreien Zonen stammen und deshalb nicht die Immunität besitzen, wie sie durch einen früher überstandenen Anfall der Krankheit verliehen wird. Da die Hühnerspirochätose den Tieren, welche sie überstanden haben, eine ausgesprochene Immunität verleiht, so hatte ich sehr begründete Hoffnungen, eine wirksame Vaccine gegen dieselbe zu erzielen, wenn ich das Virus in abgeschwächter oder toter Form in den Organismus nicht immuner Tiere einführte.

Wie bei der Serumtherapie ergab sich auch hier die Anwendung des Blutes infizierter Tiere von selbst als Material für die Herstellung der Vaccine.

Da der Keim im defibrinierten Blute nach wenigen Tagen abstirbt, si liegt der Gedanke nahe, solches Blut mit den darin enthaltenen toten Keimen bei der Impfung

vacinação. Ocorre porém, aqui uma grande dificuldade que é a de se obter, em grandes quantidades, sangue desfibrinado, completamente asetico, nos animais infetados.

Em prezença desta dificuldade, rezolvemos recorrer á esterilização do sangue, colhido, com a possivel asepsia, nos animais infetados. Depois de algumas tentativas com diferentes ajentes fizicos e quimicos: calor, cloroformio, toluol, formol, chegamos á concluzão, de que o formol nos oferecia as maiores vantajens, permitindonos obter uma vacina com as condições dezejadas e cuja tecnica de preparo passamos a expôr.

Com o sangue de um animal infetado por argas, inoculam-se diversas galinhas (pelo menos 10) e no 5.° dia da infeção, quando o exame de sangue revela a prezença de numerozos espiroquetes, procede-se á retirada delle. Para isso o pescoço dos animais infetados é previamente depenado, com todo o cuidado, lavado com uma solução de lizol a 5 %, depois, com agua fiziolojica e finalmente enxuto com algodão asetico. Uma vez feita a asepsia da rejião, cortam-se por meio de um bisturi, esterilizado e bem afiado, os vazos da rejioã lateral do pescoço, junto á cabeça, tendo o cuidado de não atinjir os condutos alimentar e respiratorio, evitando, assim, que o sangue se contamine fortemente.

Secionados os vazos do pescoço, o sangue, que delles corre, é recebido em um balão de vidro esterilizado, de capacidade de 300 gramas, em cujo interior foram colocadas pequenas esferas de porcelana, destinadas a desfibrinação, e a cujo gargalo se adapta um pequeno funil de vidro, tambem esterilizado, para maior facilidade da recepção do sangue no interior do balão.

Logo que o sangue cessa de correr abundantemente da ferida e começa a gotejar, interrompe-se a sangria, tapandose o gargalo do balão com uma mecha de algodão testeril e se ajita rapidamente o sangue até se obter completa desfibrinação delle. Uma vez desfibrinado, o sangue é passado para um balão esterilizado, no qual se vão reunindo as quantidades que

zu verwenden. Jedoch begegnet man hier der grossen Schwierigkeit der Gewinnung grösserer Mengen defibrinierten Blutes bei vollständiger Wahrung der Asepsis

Diese Schwierigkeit berücksichtigend, beschloss ich von der Sterilisation des möglichst aseptisch den infizierten Tieren entnommenen Blutes Gebrauch zu machen. Nach einingen Versuchen der Anwendung physikalischer und chemischer Mittel: Hitze, Chloroform, Toluol und Formol ergab sich das letzteres die grössten Vorzüge, indem es mir gestattete, unter den gewünschten Bedingungen eine Vaccine zu erhalten, deren Herstellung hier erörtert werden soll.

Mit dem Blutte eines durch Argas infizierten Tieres werden wenigstens 10 Hühner geimpft und am fünften Tage der Infektion, wenn die Untersuchung das Vorhandensein zahlreicher Spirochäten im Blute erweist, wird zur Entnahme desselben geschritten. Hierfür wird der Hals der infizierten Tiere sorgfältig von Federn befreit, mit einer fünfprozentigen Lysollösung und dann mit physiologischer Lösumg gewaschen und endlich mit Bäuschchen aseptischer Watte getrocknet. Nachdem die Asepsis der Region beendet ist, werden mittelst sterilen und sehr scharfen Bistouris, die Gefässe der seitlichen Halsregion nahe am Kopfe durchschnitten, wobei man Luft- und Speiseröhre sorgfältig schont und so eine stärkere Verunreinigung vermeidet.

Nach Durchschneidung der Halsgefässe wird das aus ihnen fliessende Blut in sterilisierten Ballons von 300 Gramm Gehalt aufgefangen; dieselben wurden zuvor zum Zwecke der Defibrinierung mit Porzellanschrot beschickt und in ihrem Halse befindet sich, zwecks leichteren Auffangens des Blutes, ein ebenfalls steriler Trichter.

Sobald das Blut aufhört, reichlich aus der Wunde zu fliessen und nur tröpfelt, wird der Aderlas unterbrochen, der Ballon mit einem sterilisierten Wattebausch verpfropft und das Blut lebhaft geschüttelt, bis es vollständig defibriniert ist; dann wird es

fornece cada animal, de modo que se obtem assim uma igual distribuição de germens na quantidade total de sangue. Terminada a sangria, o sangue obtido é distribuido, por meio de uma pipeta esterilizada, em vidros de boca larga, da capacidade de 125 gramas na proporção de 50 cc. para cada vidro; estes são então arrolhados com um pouco de algodão, embebido em formol, tendo-se porem o cuidado de evitar que este antisetico não escorra para dentro dos vidros, só devendo os seus vapores exercer a ação esterilizante sobre o sangue. Estes vidros permanecem assim fechados por 24 horas, sendo então o sangue delles reunido, de novo, em um balão esterilizado, simplesmente arrolhado com um pouco de algodão asetico; aqui permanece por 8 dias, tendo-se o cuidado de ajitar frequentemente o conteudo para impedir a formação de grumos. Ao cabo desse prazo o sangue é semeado em meios para cultura de aerobios e anaerobios e, uma vez verificado que nelle nenhum germen vivo existe, distribuido em tubos de capacidade de 15 cc.; estes contem 15 dózes da vacina, pois a quantidade, que empregamos na imunização, é de 1 cc. por animal, o que corresponde perfeitamente ás necessidades da pratica. O aspeto da vacina depois de promta é o de um liquido espesso de cor parda escura ou avermelhada. Os espiroquetes apresentam-se nella com a sua morphologia quasi intacta e geralmente aglomerados.

A vacina, assim preparada, submetida a variadas provas em numerozos animais, a diferentes provas em numerozos animais, tem se mostrado de poder imunizante seguro e duradouro, conservando a sua atividade normal por prazo superior a um ano apóz o seu preparo. As diferentes experiencias, á que tem sido submetida a vacina neste instituto e das quais rezulta a sua utilidade sob todos os pontos de vista, vem abaixo mencionadas nas series de experiencias expostas nos quadros O a V.

E' inutil, insistir sobre as vantajens, que na pratica o seu emprego aprezenta, oferecendo um meio seguro de pôr, nos

in einem anderen sterilisierten Ballon mit den von den anderen Tieren gewonnenen Mengen vermischt, so dass in der Gesammtblutmenge eine gleichmässige Verteilung der Keime erreicht wird. Nach vollendeter Entnahme wird das gewonnene Blut mittelst steriler Pipette auf weithalsige Gläser von 125 Gramm Inhalt verteilt, so dass jedes 50 Gramm enthält; diese werden dann mit in Formol getränkter Watte verschlossen, wobei man sorgfältig vermeidet, dass dasselbe in die Gläser läuft, da nur die Dämpfe ihre sterilisierende Wirkung auf das Blut ausüben sollen. Diese Gläser bleiben während 24 Stunden geschlossen, worauf das Blut aus denselben wieder in einem sterilisierten Ballon vereinigt und letzterer mit einem Wattepfropf verschlossen wird. Hier bleibt es 8 Tagen während welcher für öfteres Umschütteln zu sorgen ist, um die Bildung von Klümpchen zu verhüten. Am Ende dieser Zeit wird das Blut auf für gewöhnliche und anärobische Keime passende Nährböden ausgesät und nach festgestellter Abwesenheit solcher Keime auf Tuben von 15 Cc. Gehalt verteilt. Letztere enthalten 1 Vaccinedose, da die zur Immunisierung eines Tieres verwandte Menge 1 Cc. beträgt, was den Anforderungen der Praxis vollständig entspricht. Die fertige Vaccine erscheint als eine dicke, dunkelbraune oder rötlich Flüssigkeit. Die Spirochäten in derselben zeigen eine fast völlig unveränderte Form und sind gewöhnlich in Haufen vereinigt.

Die so hergestellte Vaccine wurde verschiedenen Proben bei zahlreichen Tieren unterworfen und zeigte ein zuverlässiges und anhaltendes Immunisierungsvermögen, indem sie ihre normale Wirksamkeit noch nach mehr als Jahresfrist bewahrt. Die verschiedenen Proben, welchen sie im Institute unterworfen wird und aus denen ihre Brauchbarkeit in jeder Hinsicht hervorgeht, finden sich unten in Tabellen O bis V aufgeführt.

Es ist unnötig, auf die Vorteile einzugehen, welche der Gebrauch der Vaccine in der Praxis gewährt, indem sie ein sicheres

galinheiros infetados, as aves ao abrigo da espiroquetoze, quando vacinadas antes de nelles serem introduzidas.

Ultimamente, temos nos ocupado com o preparo de uma vacina contra a espiroquetoze, substituindo ao formol a glicerina, adicionada em partes iguais ao sangue. A vacina, assim obtida e que empregamos na doze de 2 cc. para cada animal, goza igualmente de propriedades imunizantes notaveis e semelhantes á da vacina preparada pelo formol; as nossas experiencias, porém, sendo de data recente, não nos fornecem ainda criterio seguro sobre a duração e a conservação do seu poder imunizante. A vacina, preparada pelo formol, como pela glicerina, nós a temos até agora empregada por via subcutanea; julgamos, que nos galinheiros infetados, uma só vacinação, basta porquanto a picada dos *argas* infetados só tornará a imunidade mais solida, sendo obsolutamente desnecesaria qualquer nova inoculação da vacina. Quanto aos galinheiros não infetados (em que a vacinação fôr feita com o fim de garantir os animais contra as probabilidades da importação da infeção), nelles a revacinação não deverá ser feita antes de um ano, pois as experiencias demonstram que a vacina confere imunidade suficiente até esse prazo. A inoculação da vacina nenhum perigo oferece para os animais, ainda mesmo quando muito novos ou enfraquecidos por uma cauza qualquer.

Aqui encerramos a expozição dos nossos rezultados sobre a vacinação contra o espiroquetoze, cujo emprego nos parece de todo o ponto recomendavel, como um dos meios mais praticos para se obter a profilaxia da dezimadora epizootia, tão comum entre nós. A mesma tecnica que usamos se recommenda, egualmente ao nosso ver, para o preparo de vacinas para as demais espiroquetozes como a Tick fever, a febre recurrente etc.

Manguinhos, Outubro de 1910.

Mittel bietet, um die Vögel in einem infizierten Hüherhofe vor der Spirochätose zu schützen, wenn man sie vor dem Einbringen in denselben impft.

Neuerdings habe ich mich mit der Herstellung einer Vaccine befasst, in welcher das Formol durch dem Blute zu gleichen Teilen beibefügtes Glyzerin ersetzt wird. Die so erhaltene Vaccine, welche ich in der Dosis von 2 Cbcm. per Tier anwandte, besitzt ebenfalls hervorragende immunisierende Eigenschaften, wie diejenige, welche mit Formol hergestellt wurde; doch sind meine Versuche neueren Datums und gestatten mir noch kein sicheres Urteil über die Dauer und Erhaltung des Immunisierungsvermögens. Die Vaccine, sowohl die mit Formol, als auch die mit Glyzerin hergestellte, habe ich bis jetzt immer subkutan angewandt; ich halte auch eine einmalige Impfung in infizierten Hühnerhöfen für genügend, da die Bisse der infizierten Argaszecken, die Immunität nur verstärken, so dass jede weitere Vaccination unnötig ist. Bei nicht infizierten Hühnerhöfen, wo die Imfung nur zum Zwecke des Schutzes der Tiere gegen eine importierte Infektion geschieht, braucht die Revaccination nicht vor einem Jahre stattzufinden, da die Versuche zeigen, dass die Vaccination bis zu diesem Termin eine genügende Immunität verleiht. Die Einimpfung der Vaccine bildet selbst für sehr junge oder aus irgend einem Grunde geschwächte Tiere keine Gefahr.

Hier schliesse ich die Erörterung der Resultate, welche ich bei der Impfung gegen Spirochätose erhielt; die Anwendung des Verfahrens scheint mir in jeder Hinsicht empfehlenswert, als eines der brauchbarsten Mittel für die Prophylaxe der hier zu lande so häufigen und verheerenden Epizootie. Die von mir gebrauchte Technik empfiehlt sich, meines Erachtens, auch zur Herstellung von Vaczine gegen die anderen Spirochätosen, wie Tick fever, Recurrens u. s. w.

Manguinhos, Oktober 1910.

VERIFICAÇÕES FEITAS COM OS SOROS ANTI SPIROQUETICOS

Serie A

Ensaio do soro da cabra BS

(Antiespiroquetico hemolitico)

Animais tratados preventivamente 24 horas antes da infeção

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 680 grms.	0, 1 cc de sangue com espiroquetes.	0,5 cc soro normal de cabra.	Todos estes animaes adquiriram espiroquetoze-
Frango n. 2 520 grms.		0,1 cc soro especifico.	
Frango n. 3 650 grms.		0,1 cc soro especifico.	
Frango n. 4 570 grms.		0,2 cc soro especifico.	
Frango n. 5 570 grms.		0,2 cc. soro especifico.	
Frango n. 6 570 grms.		0,5 cc soro especifico.	Nenhum destes animaes apresentou manifestações da infecção espiroquetica.
Frango n. 7 515 grms.			
Frango n. 8 610 grms.			
Frango n. 9 640 grms.			
Frango n. 10 630 grms.		1 cc soro especifico.	

VERSUCHE MIT DEN ZWEI HERGESTELLTEN ARTEN VON SERUM GEGEN SPIROCHAETOSIS

Serie A

Versuche mit Serum von Ziege BS

(Spirochätentötendes und hämolytisches Serum)

24 Stunden vor der Infektion behandelte Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE INJECTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJECTION)	RESULTAT
Huhn n. 1 Zeuge 680 grms.	0,1 cc. Blut mit spirochäten.	0,5 cc normales Ziegenserum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose.
Huhn n. 2 520 grms.		0,1 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 3 650 grms.		0,1 cc spezifiches Serum.	
Huhn n. 4 570 grms.		0,2 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 5 570 grms.		0,2 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 6 570 grms.		0,5 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheindngen von Spirochätose.
Huhn n. 7 515 grms.			
Huhu n. 8 610 grms.			
Huhn n. 9 640 grms.			
Huhn n. 10 630 grms.		1 cc spezifisches Serum.	

Serie B

Ensaio do soro da cabra BS

(Antiespiroquetico hemolitico)

Animais tratados pelo soro e ao mesmo tempo infetados

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJEÇÃO SUB CUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 690 grms.		1, cc soro normal de cabra.	
Frango n. 2 640 grms.		0,2 cc soro especifico.	Todos estes animais adquiriram espiroquetoze.
Frango n. 3 600 grms.		0,5 cc soro especifico.	
Frango n. 4 580 grms.		0,5 cc soro especifico.	
Frango n. 5 610 grms.	0,1 cc de sangue com espiroquetes.		
Frango n. 6 575 grms.			
Frango n. 7 610 grms.			
Frango n. 8 600 grms.		1 cc soro especifico.	Nenhum destes animals manifestações da infeção espiroquetica.
Frango n. 9 680 grms.			
Frango n. 10 700 grms.			

Serie B

Versuche mit Serum von Ziege B S

(Spirochätentötendes und hämolytisches Serum)

Gleichzeitig infizierte und mit Serum behandelte Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE INJEKTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	RESULTAT
Huhn n. 1 Zeuge 690 grms.		1 cc normales Ziegenserum.	
Huhn n. 2 640 grms.		0,2 cc spezifisehes Serum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose.
Huhn n. 3 600 grms.		0,5 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 4 580 grms.		0,5 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 5 610 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.		
Huhn n. 6 575 grms.			
Huhn n. 7 610 grms.			
Huhn n. 8 600 grms.		1 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheinungen von Spirochätose.
Huhn n. 9 680 grms.			
Huhn n. 10 700 grms.			

Serie C.

Ensaios do soro da cabra BS

(Antiespiroquetico hemolitico)

Animais tratados 6 horas apóz a infeção

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 720 grms.	0,1 cc de sangue com espiroquetes.	3 cc soro normal de cabra.	Todos estes animais adquiriram espiroquetoze.
Frango n. 2 750 grms.		1 cc soro especifico.	
Frango n. 3 715 grms.		2 cc soro especifico.	
Frango n. 4 690 grms.		3 ce soro especifio.	Nenhum destes animais apresentou manifestaçōes da infeção espiroquetica.
Frango n. 5 645 grms.			
Frango n. 6 600 grms.			
Frango n. 7 700 grms.			
Frango n. 8 675 grms.			

Serie C.

Versuche mit Serum von *Ziege* BS

(Spirochätentötendes und hämolytisches Serum)

6 Stunden nach der Infektion behandelte Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE INJEKTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	RESULTAT
Huhn n. 1 Zeuge. 720 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.	3 cc normales Ziegenserum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose.
Huhn n. 2 720 grms.		1 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 3 715 grms.		2 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 4 690 grms.		3 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheinungen von Spirochätose.
Huhn n. 5 645 grms.			
Huhn n. 6 600 grms.			
Huhn n. 7 700 grms.			
Huhn n. 8 675 grms.			

Serie D

Ensaios do soro da cabra BS

(Antiespiroquetico hemolitico)

Animais tratados 18 horas apóz a infeção

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 820 grms.	0,1 cc de saugue com espiroquetes:	5 cc soro normal de cabra.	Todos estes animaes adquiriram espiroquetoze.
Frango n. 2 800 grms.		3 cc soro especifico.	
Frango n 3 810 grms.		4 cc soro especifico.	
Frango n. 4 765 grms.		5 cc soro especifico	Nenhum destes animaes apresentou manifestações da infecção espiroquetica.
Frango n. 5 780 grms.			
Frango n. 6 735 grms.			
Frango n. 7 655 grms.			
Frango n. 8 735 grms.			

Serie D

Versuche mit Serum von Ziege BS

(Spirochätentötendes und hämolytisches Serum)

18 Stunden nach der Infektion behandelte Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE INJEKTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	RESULTAT
Huhn n. 1 Zeuge 820 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.	5 cc normales Ziegenserum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose.
Huhn n. 2 800 grms.		3 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 3 810 grms.		4 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 4 765 grms.		5 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheinungen von Spirochätose.
Huhn n. 5 780 grms.			
Huhn n. 6 735 grms.			
Huhn n. 7 655 grms.			
Huhn n. 8 735 grms.			

Serie E

Ensaio do soro de cabra BS

(Antiespiroquetico hemolitico)

Animais tratados 24 horas apóz a infeção

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJECÇÃO SUB-CUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 690 grms.	0,1 cc de sangue com espiroquetes.	10 cc soro normal de cabra.	Todos estes animais adquiriram espiroquetoze.
Frango n. 2 700 grms.		5 cc soro especifico.	
Frango n. 3 680 grms.		8 cc soro especifico.	
Frango n, 4 645 grms.		10 cc soro especifico.	Nenhum destes animais apresentou manifestações de infecção espiroquetica.
Frango n. 5 645 grms.			
Frango n. 6 700 grms.			
Frango n. 7 570 grms,			
Frango n. 8 590 grms.			

Serie E

Versuche mit serum von Ziege BS

(Spirochätentötendes und hämolytisches Serum

24 Stunden nach der Infektion behandelte Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE IUJEKTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	RESULTAT
Huhn n. 1 Zeuge 690 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.	10 cc normales Ziegenserum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose.
Huhn n. 2 700 grms.		5 cc spezifisches serum.	
Huhn n. 3 680 grms.		8 cc spezifisches serum.	
Huhn n. 4 645 grms.		10 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Esscheinung von Spirochätose.
Huhn n. 5 645 grms.			
Huhn n. 6 700 grms.			
Huhn n. 7 570 grms.			
Huhn n. 8 590 grms.			

Serie F

Ensaio do soro da cabra BS

(Antiespirilico hemoquetico)

Animais tratados 24 horas apóz a infeção

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJEÇÃO SUB-CUTANEA	REZULTADO
Frango n 1 Testemunha 680 grms.	0,1 cc de sangue com espiroquetes.	10 cc soro normal de cabra.	Todos estes animaes adquiriram espiroquetoze.
Frango n. 2 520 grms.		5 cc soro especifico	
Frango n. 3 650 grms.		8 cc soro especifico.	
Frango n. 4 590 grms.		9 cc soro especifico	
Frango n. 5 570 grms.		10 cc soro especifico.	Nenhum destes animaes aprezentou manifestações da infeção espiroquetica.
Frango n. 6 515 grms.			
Frango n. 7 510 grms.			
Frango n. 8 530 grms.			
Frango n. 9 640 grms.			

Serie F

Versuche mit Serum von Ziege BS

(Spirochätentötedes und hämolytisches Serum)

24 Studen nach der Infektion behandelt Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE INJEKTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	REZULTAT
Huhn n. 1. Zeuge. 680 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochätose.	10 cc normales Ziegenserum	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose
Huhn n. 2 520 grms.		5 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 3 650 grms.		8 cc. spezofisches Serum	
Huhn n. 4 590 grms.		9 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 5 570 grms.		10 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheimungen von Spirochätose.
Huhn n. 6 515 grms.			
Huhn n. 7 510 grms.			
Huhn n. 8 530 grms.			
Huhn n. 9 640 grms.			

Serie G

Ensaio do soro da cabra DS

(Antiespiroquetico não hemolitico)

Animais tratados preventivamente 24 horas antes da infeção

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 700 grms.	0,1 cc de sangue com espiroquetes.	0,5 cc soro normal de cabra.	Todos estes animaes adquiriram espiroquetoze.
Frango n. 2 575 grms.		0,1 cc soro especifico.	
Frango n. 3 715 grms.		0,1 cc soro especifico.	
Frango n. 4 690 grms.		0.2 cc soro especifico.	
Frango n. 5 640 grms.		0,2 cc soro especifico.	
Frango n. 6 615 grms.		0,5 cc soro especifico.	Nenhum destes animaes apresentou manifestações da infecção espiroquetica.
Frango n. 7 610 grms.			
Frango n. 8 700 grms.			
Frango n. 9 625 grms.			
Frango n. 10 645 grms.		1 cc soro especifico.	

Serie G

Versuche mit Serum von Ziege DS

(Nicht hämolytisches Serum gegen Spirochätose)

24 Stunden vor der Infektion behandelte Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE INJEKTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	RESULTAT
Huhn n. 1 Zeuge 700 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochätose.	0,5 normales Ziegenserum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose.
Huhn n. 2 575 grms.		0,1 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 3 715 grms.		0,1 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 4 690 grms.		0,2 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 5 640 grms.		0,2 cc spezifisches Sernm.	
Huhn n 6 615 grms.		0,5 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheinungen von Spirochätose.
Huhn n. 7 610 grms.			
Huhn n. 8 700 grms.			
Huhn n. 9 625 grms.			
Huhn n. 10 645 grms.		1 cc spezifiches Serum.	

Serie H

Ensaio do soro da cabra DS

(Antiespiroquetico não hemolitico)

Animais tratados pelo soro e ao mesmo tempo infetados

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 735 grms.	0,1 cc de sangue com espiroquetes.	1 cc soro normal de cabra.	Todos estes animaes adquiriram espiroquetose.
Frango n. 2 700 grms.		0,5 cc soro especifico.	
Frango n. 3 640 grms.		0,5, cc soro especifico.	
Frango n. 4 630 grms.		1 cc soro especifico.	Nenhum destes animaes apresentou manifestações da infeção espiroquetica.
Frango n. 5 710 grms.			
Frango n. 6 630 grms.			
Franga n. 7 600 grms.			
Frango n. 8 410 grms.			

Serie H

Versuche mit Serum von Ziege DS

(Nicht hämolytisches Serum gegen Spirochätose)

Gleichzeitig infizierte und mit Serum behandelte Tiere

TIER	DOSIS DE VIRUS (SUBKUTANE INJEKTION)	DOSIS DE SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	RESULTAT
Huhn n. 1 Zeuge 735 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.	1 cc normales Ziegenserum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose.
Huhn n. 2 700 grms.		0,5 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 3 640 grms.		0,5 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 4 630 grms.		1 cc espezifisches Serum	Keines der Tiere zeigt Erscheinung von Spirochätose.
Huhn n. 5 710 grms.			
Huhn n. 6 630 grms.			
Huhn n. 7 600 grms.			
Huhn n. 8 410 grms.			

Serie I

Ensaio do soro da cabra DS

(Antiespiroquetico não hemolitico)

Animais tratados 6 horas apóz a infeção

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	REZULTADO
Frango n 1 Testemunha 720 grms.	0,1 cc de sangue com spiroquetes.	3 cc soro normal de cabra.	Todos estes animaes adquiriram espiroquetoze.
Frango n 2 655 grms.		1 cc soro especifico.	
Frango n. 3 680 grms.		2 cc soro especifico.	
Frango n. 4 645 grms.		3 cc soro especifico.	Nenhum destes animaes apressentou manifestações da infecção espiroquetica.
Frango n. 5 710 grms.			
Frango n. 6 625 grms.			
Frango n. 7 600 grms.			
Frango n. 8 590 grms.			

Serie I

Versuche mit Serum von *Ziege* DS

(Nicht hämolytisches Serum gegen Spirochätose)

6 Stunden nach der Infektion behandelte Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE INJEKTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	RESULTAT
Huhn n. 1 Zeuge 720 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.	3 cc normales Ziegenserum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochtäose.
Huhn n. 2 655 grms.		1 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 3 680 grms.		2 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 4 645 grms.		3 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheinuger van Spirochätose.
Huhn n. 5 710 grms.			
Huhn n. 6 625 grms			
Huhn n. 7 600 grms.			
Huhn n. 8 590 grms.			

Serse J

Ensaio do soro da cabra DS

(Antiespiroquetico não hemolitico)

Animais tratados 18 horas apóz a infeção

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DO SORO (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 720 grams.		5 cc soro normal de cabra.	
Frango n. 2 680 grams.		3 cc soro especifico.	Todos estes animaes adquiriram espiroquetoze.
Frango n. 3 500 grams.		4 cc soro especifico.	
Frango n. 4 650 grams.	0,1 cc de sangue com espiroquetes.		
Frango n. 5 600 grams.			
Frango n. 6 630 grams.		5 cc soro especifico.	Nenhum destes animaes apresentou manifestações da infeção espiroquetica..
Frango n. 7 680 grams.			
Frango n. 8 610 grams.			

Serie J

Versuche mit Serum von Ziege DS

(Nicht hämolytisches Serum gegen Spirochätose)

18 Studen nach der Infektion behandelte Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE INJEKTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	RESULTAT
Huhn n. 1 Zeuge 720 grms.		5 cc normales Ziegenserum.	
Huhn n. 2 680 grms.		3 cc spezifisches Serum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose.
Huhn n. 3 500 grms.		4 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 4 650 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.		
Huhn n. 5 600 grms.			
Huhn n. 6 630 grms.		5 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheinungem von Spirochätose.
Huhn n. 7 680 grms.			
Huhn n. 8 610 grms.			

Serie K

Ensaio do soro da cabra DS

(Antiespiroquetico não hemolitico)

Animais tratados 24 horas apóz a infeção

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 690 grms.	0,1 ccde sangue com espiroquetes.	10 cc soro normal de cabra.	Todos estes animaes adquiriram espiroquetoze.
Frango n. 2 680 grms.	0,1 ccde sangue com espiroquetes.	5 cc soro especifico.	Todos estes animaes adquiriram espiroquetoze.
Frango n. 3 635 grms.	0,1 ccde sangue com espiroquetes.	8 cc soro especifico.	Todos estes animaes adquiriram espiroquetoze.
Frango n. 4 525 grms.	0,1 ccde sangue com espiroquetes.	9 cc soro especifico.	Todos estes animaes adquiriram espiroquetoze.
Frango n. 5 600 grms.	0,1 ccde sangue com espiroquetes.	10 cc soro especifico.	Nenhum destes animaes aprezentou manifestações de infeção espiroquetica.
Frango n. 6 640 grms.	0,1 ccde sangue com espiroquetes.	10 cc soro especifico.	Nenhum destes animaes aprezentou manifestações de infeção espiroquetica.
Frango n. 7 500 grms.	0,1 ccde sangue com espiroquetes.	10 cc soro especifico.	Nenhum destes animaes aprezentou manifestações de infeção espiroquetica.
Frango n. 8 670 grms.	0,1 ccde sangue com espiroquetes.	10 cc soro especifico.	Nenhum destes animaes aprezentou manifestações de infeção espiroquetica.
Frango n. 9 470 grms.	0,1 ccde sangue com espiroquetes.	10 cc soro especifico.	Nenhum destes animaes aprezentou manifestações de infeção espiroquetica.

Serie K

Versuche mit Serum von Ziege DS

(Nicht hämolytisches Serum gegen Spirochätose)

24 Studen nach der Infektion behandelte Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE INJEKTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	REZULTAT
Huhn n. 1 Zeuge. 690 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.	10 cc normales Ziegenserum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose.
Huhn n. 2 680 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.	5 cc spezifisches Serum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose.
Huhn n. 3. 635 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.	8 cc spezifisches Serum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose.
Huhn n. 4. 525 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.	9 cc spezifisches Serum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose.
Huhn n. 5. 600 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.	10 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheinungen von Spirochätose.
Huhn n. 6. 640 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.	10 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheinungen von Spirochätose.
Huhn n. 7. 500 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.	10 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheinungen von Spirochätose.
Huhn n. 8. 670 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.	10 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheinungen von Spirochätose.
Huhn n. 9. 470 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.	10 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheinungen von Spirochätose.

Série L

Ensaio do soro da cabra DS

(Antiespiroquetico não hemolitico)

Animais tratados 24 horas apóz a infeção

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 750 grms.	0, cc de sangue com espiroquetes.	10 cc soro normal de cabra.	Todos estes animaes adquiriram espiroquetoze.
Frango n. 2 740 grms.		5 cc soro especifico.	
Frango n. 3 670 grms.		8 cc soro especifico.	
Frango n. 4 595 grms.		10 cc soro especifico.	Nenhum destes animaes apresentou manifestações da infeção espiroquetica.
Frango n. 5 660 grms.			
Frango n. 6 680 grms.			
Frango n. 7 700 grms.			
Frango n. 8 645 grms.			

Série L

Versuche mit Serum von Ziege DS

(Nicht hämolytisches Serum gegen Spirochätose)

24 Stunden nach der Infektion behandelte Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE INJEKTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	RESULTAT
Huhn n. 1 Zeuge 750 grms.	0, cc Blut mit Spirochäten.	10 cc normales Ziegenserum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose.
Huhn n. 2 740 grms.		5 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 3 670 grms.		8 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 4 595 grms.		10 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheinung von Spirochätose.
Huhn n. 5 660 grms.			
Huhn n. 6 680 grms.			
Huhn n. 7 700 grms.			
Huhn n. 8 645 grms.			

Serie M

Ensaio do soro das cabras BS e DS

(Injeção intravenoza)

Animais tratados 6 horas apóz a infeção

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 600 grms.	0,1 cc de sangue com espiroquetes.	3 cc soro normal de cabra.	Este animal adquiriu espirochaetose.
Frango n. 2 525 grms.		3 cc soro especifico cabra BS.	Morreu 2 horas apóz a injeção.
Frango n. 3 610 grms.			Morreu 40 minutos apóz a injecção.
Frango n. 4 620 grms.			Morreu 5 horas apóz a injeção.
Frango n. 5 500 grms.			Morreu 2 horas apóz a injeção.
Frango n. 6 570 grms.		3 cc soro especifico cabra BS.	Estes animais não se resentiram absolutamente da injeção intravenoza. Nenhum delles adquiriu espiroquetoze.
Frango n. 7 630 grms.			
Frango n. 8 640 grms.			
Frango n. 9 555 grms.			

Serie M

Versuche mit Serum von Ziegen BS und DS

(Intravenöse Injektion)

6 Stunden nach der Infektion behandelte Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE INJECTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	RESULTAT
Huhn n. 1 Zeuge 600 grms.	0,1 cc Blut mi Spirochäten.	3 cc normales Ziegenserum	Erkrankte an Sipirachätose.
Huhn n. 2 525 grms		3 cc spezifisches Serum Ziege BS.	† 2 Stunden nach der Injektion.
Huhn n. 3 610 grms.			† 40 Minuten nach der Injektion.
Huhn n. 4 620 grms.			† 5 Stunden nach der Injektion.
Huhn n. 5 500 grms.			† 2 Stunden nach der Injektion.
Huhn n. 6 570 grms.		3 cc zpezifisches Serum Ziege BS.	Die Tiere zeigten keine Reaktion nach der sub-kutanen Injektion und keine derselben erkrankte an Spirochätose.
Huhn n. 7 630 grms.			
Huhn n. 8 640 grms.			
Huhn n. 9 555 grms.			

Serie N

Ensaio do soro das cabras BS e DS

(Injeção intravenoza)

Animais tratados 18 horas apóz a infeção

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 670 grms.	0,1 cc de sangue com espiroquetes.	5 cc soro normal de cabra.	Este animal adquiriu espiriloze.
Frango n. 2 630 grms.		5 cc soro especifico cabra DS.	Morreu 35 minutos apóz a injeção.
Frango n. 3 610 grms.			Morreu 20 minutos apóz a injeção.
Frango n. 4 690 grms.			Morreu 50 minutos apóz a injeção.
Frango n. 5 700 grms.			Morreu 15 minutos apóz a injeção.
Frango n. 6 560 grms.		5 cc soro especifico cabra DS.	Estes animaes não se resentiram absolutamente da injeção intravenoza. Nenhum d'elles adquiriu espiroquetoze.
Frango n. 7 645 grms.			
Frango n. 8 710 grms.			
Frango n. 9 670 grms.			

Serie N

Versuche mit Serum von Ziegen BS und DS

(Intravenöse Injektion)

18 Stunden nach der Infektion behandelte Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE INJEKTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	RESULTAT
Huhn n. 1 Zeuge 6. 670 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.	5 cc normales Ziegenserum.	Erkrankte an Spirochätose
Huhn n. 2 630 grms.		5 cc spezifisches Serum Ziege BS.	† 35 Minuten nach der Injektion.
Huhn n. 3 610 grms.			† 29 Minuten nach der Injektion.
Huhn n. 4 690 grms.			† 50 Minuten nach der Injektion.
Huhn n. 5 700 grms.			† 15 Minuten nach der Injektion.
Huhn n. 6 560 grms.		5 cc spezifisches Serum Ziege DS.	Die Tiere zeigten keine Reaktion nach der subkutanen Injektion und keines derselben erkrankte an Spirochätose.
Huhn n. 7 645 grms.			
Huhn n. 8 710 grms.			
Huhn n. 9 670 grms.			

Série O Verificações feitas com a vaccina contra a espiroquetose da gallinha

Dose minima imunizante

ANIMAL (PESO OSCILANDO ENTRE 600 e 800 GRMS.	QUANTIDADE DA VACCINA (VIA SUB-CUTANEA)	QUANTIDADE DE SANGUE INFETANTE INOCULADO 1 MEZ APÓS A VACCINAÇÃO. VIA SUB-CUTANEA.	REZULTADO
Frangos 1 a 4	0,01 cc	0,1 cc	Todos os frangos deste grupo se apresentaram infetados.
Frangos 5 a 8	0,05 cc	0,1 cc	Sómente o frango n. 8 se infetou.
Frangos 9 a 12	0,1 cc	0,1 cc	Nenhum destes animaes se infetou.
Frangos 13 a 16	0,5 cc	0,1 cc	
Frangos 17 a 20	1 cc	0,1 cc	
Frangos 21 a 24 (Testemunhas)	0 cc	0,1 cc	Todos os frangos deste grupo adquiriram a espiroquetose.

Série O Versuche mit Vaccine gegen Huehner spirochaetose

Kleinste immunisierende Dose

TIER GEWICHT 600 800 GRMS.	DOSE DER VACCINE (SUBKUTANE INJEKTION)	1 MONAT NACH IMPFUNG INJIZIERTE DOSE VON VIRULENTEM BLUTE.	RESULTAT
Hühner 1 a 4	0,01 cc	0,1 cc	Sämtliche Hühner erkrankten an Spirochätose.
Hühner 5 a 8	0,05 cc	0,1 cc	Nur n. 8 erkrankte.
Hühner 9 a 12	0,1 cc	0,1 cc	Keines dieser Tiere erkrankte.
Hühner 13 a 16	0,5 cc	0,1 cc	
Hühner 17 a 20	1 cc	0,1 cc	
Hühner 21 a 24 Zeugen	0 cc	0,1 cc	Sämmtliche Hühner erkrankten an Spírochätose.

Serie P **Verificações da imunidade conferida pela vacina ao cabo de 3 mezes**

ANIMAL PEZO ENTRE 600 E 800 GRMS.	QUANTIDADE DE VACINA (VIA SUB-CUTANEA)	QUANTIDADE DE SANGUE INFETANTE INOCULADO 3 MEZES APOZ A VACINAÇÃO. VIA SUB-CUTANEA	REZULTADO
Frango 1 Frango 2 Frango 3 Frango 4 Frango 5 Frango 5 Frango 6 Frango 7 Frango 8 Frango 9 Frango 10 Frango 11 Frango 12	1 cc	0,1 cc	Nenhum destes animais se aprezentou infetado.
Frango 13 Testemunha Frango 14 Testemunha	0 cc		Os frangos 13 e 14 adquiriram esprioquetose.

Serie P **Immunitätsversuche mit Vaccine nach 3 Monaten**

TIER GEWICHT 600-800 GRMS.	DOSIS DER VACCINE (SUBKUTANE EINSPRITZUNG)	3 MONATE NACH INPFUNG INJIZEIRTE DOSE VON VIRULENTEM BLUTE.	RESULTAT
Huhn 1 Huhn 2 Huhn 3 Huhn 4 Huhn 5 Huhn 6 Huhn 7 Huhn 8 Huhn 9 Huhn 10 Huhn 11 Huhn 12	1 cc	0,1 cc	Keines dieser Tiere erkrankte.
Huhn 13 Zeuge Huhn 14 Zeuge	0 cc		Die Hühner 13 und 14 erkrankten an Spirochätose.

Serie Q **Verificação da imunidade conferida pela vacina ao cabo de 6 mezes**

ANIMAL PESO ENTRE 600 E 800 GRMS.	QUANTIDADE DE VACINA (VIA SUB-CUTANEA)	QUANTIDADE DE SANGUE INFETANTE INOCULADO 6 MEZES APOZ A VACINAÇÃO VIA SUB-CUTANEA	REZULTADO
Frango 1 Frango 2 Frango 3 Frango 4 Frango 5 Frango 6 Frango 7 Frango 8 Frango 9 Frango 10 Frango 11 Frango 12 Frango 13	1 cc	0,1 cc	Nenhum destes animais se aprezentou infetado.
Frango 14 Testemunha Frango 15 Testemunha Frango 16 Testemunha	0 cc		Os frangos ns. 14, 15 e 16 adquiriram a espiroquetoze.

Serie Q **Immunitaetsversuche mit Vaccine nach 6 Monaten**

TIER EGWICHT 600-800 GRMS.	DOSIS DER VACCINE (SUBKUTANE EINSPRITZUNG)	6 MONATE NACH IMPFUNG INJIZIERTE DOSE VON VIRULENTEM BLUTE.	RESULTAT
Huhn 1 Huhn 2 Huhn 3 Huhn 4 Huhn 5 Huhn 6 Huhn 7 Huhn 8 Huhn 9 Huhn 10 Huhn 11 Huhn 12 Huhn 13	1 cc	0,1 cc	Keines dieser Tiere erkrankte.
Huhn 14 Zeuge Huhn 15 Zeuge Huhn 16 Zeuge	0 cc		Die Hühner ns. 14, 15 und 16 erkrankten an Spirochätose.

Serie R Verificação da imunidade conferida pela vacina ao cabo de 10 mezes

ANIMAL PEZO ENTRE 600 E 800 GRMS.	QUANTIDADE DE VACINA (VIA SUB-CUTANEA)	QUANTIDADE DE SANGUE INFETANTE INOCULADO 10 MEZES DEPOIS DA VACINAÇÃO. VIA SUB-CUTANEA	REZULTADO
Frango 1 Frango 2 Frango 3 Frango 4 Frango 5 Frango 6 Frango 7 Frango 8	1 cc	0,1 cc	Nenhum destes animais se aprezentou infetado.
Frango 9 Testemunha Frango 10 Testemunha Frango 11 Testemunha	0 cc		Todos estes animais adquiriram a espiroquetoze.

Serie R Immunitaetsversuche mit Vaccine nach 10 Monaten

TIER GEWICHT 600—800 GRMS.	DOSE DER VACCINE (SUBKUTANE EINSPRITZUNG)	10 MONATE NACH IMPFUNG INJIZIERTE DOSE VON VIRULEM BLUTE.	RESULTAT
Huhn 1 Huhn 2 Huhn 3 Huhn 4 Huhn 5 Huhn 6 Huhn 7 Huhn 8	1 cc	0,1 cc	Keines dieser Tiere erkrankte.
Huhn 9 Zeuge Huhn 10 Zeuge Huhn 11 Zeuge	0 cc		Sämmtliche Tiere erkrankten an Spirochätose.

Serie S **Verificação da imunidade conferida pela vacina ao cabo de 13 mezes**

ANIMAL PEZO ENTRE 600 E 800 GRMS.	QUANTIDADE DE VACINA (VIA SUB-CUTANEA)	QUANTIDADE DE SANGUE INFETANTE INOCULADO 13 MEZES APOS A VACINAÇÃO VIA SUB-CUTANEA	REZULTADO
Frango 1 Frango 2 Frango 3 Frango 4 Frango 5 Frango 6 Frango 7 Frango 8 Frango 9 Frango 10 Frango 11 Frango 12 Frango 13 Frango 14	1 cc	0,1 cc	Nenhum destes animais se apresentou infetado.
Frango 15 Testemunha Frango 16 Testemunha Frango 17 Testemunha	0 cc		Todos estes animais adquiriram espiroquetoze

Serie S **Immunitaetsversuche mit Vaccine nach 13 Monaten**

TIER GEWICHT 600—800 GRMS.	DOSIS DER VACCINE (SUB-KUTANE EINSPRITZUNG)	13 MONATE NACH IMPFUNG INJIZIERTE DOZE VON VIRULENTEM BLUTE	RESULTAT
Huhn 1 Huhn 2 Huhu 3 Huhn 4 Huhn 5 Huhn 6 Huhn 7 Huhn 8 Huhn 9 Huhn 10 Huhn 11 Huhn 12 Huhn 13 Huhn 14	1 cc	0,1 cc	Keines dieser Tiere erkrankte.
Huhn 15 Zeuge Huhn 16 Zeuge Huhn 17 Zeuge	0 cc		Sämmtlich Tiere erkranken an Spirochätose.

Serie T Verificação da rezistencia dos animais vacinados a quantidades diversas de sangue infetante

ANIMAL PEZO ENTRE 600 E 800 GRMS.	QUANTIDADE DE VACINA (VIA SUB-CUEANEA)	QUANTIDADE DE SANGUE INFETANTE INOCULADO 1 MEZ APOZ A VACINAÇÃO.	REZULTADO
Frango 1	1 cc	0,1 cc	Nenhum destes animais adquiriu a infeção.
Frango 2		0,1 cc	
Frango 3		1 cc	
Frango 4		1 cc	
Frango 5		5 cc	
Frango 6		5 cc	
Frango 7		10 ce	
Frango 8		10 cc	
Frango 9 Testemunha	0 cc	0,1 cc	Os frangos 9 e 10 adquiriram a espiroquetoze.
Frango 10 Testemunha		0, cc	

Serie T Resistenzversuche der mit verschiedenen Dosen virulenten Blutes vaccinierten Tiere

TIER GEWICHT 600-800 GRMS.	DOSE DER VACCINE (SUBKUTANE EINSPRITZUNG)	1 MONAT NACH DER VACCINATION INJIZIERTE DOSE VON VIRULENTÈM BLUTE.	RESULTAT
Huhn 1	1 cc	0,1 cc	Keines dieser Tiere erkrankte.
Huhn 2		0,1 cc	
Huhn 3		1 cc	
Huhn 4		1 cc	
Hnhn 5		5 cc	
Huhn 6		5 cc	
Huhn 7		10 cc	
Huhn 8		0,1 cc	
Huhn 9 Zeuge	0 cc	0, cc	Die Hühner 9 und 10 erkrankten an Spirochätose.
Huhn 10 Zeuge			

Serie U **Verificação da conservação do poder imunisante da vacina feita 1 anno apóz o seu preparo**

ANIMAL PESO ENTRE 600 e 800 GRMS.	QUANT. DE VACCINA COM 1 ANNO DE IDADE (VIA SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SANGUE INFETANTE INOCULADO 1 MEZ APÓZ.	REZULTADO
Frango n. 1 Frango n. 2 Frango n. 3 Frango n. 4 Frango n. 5 Frango n. 6 Frango n. 7	1 cc	0,1 cc	Nenhum destes animaes adquiriu a infecção.
Frango n. 8 Testemunha Frango n 9 Testemunha	0 cc	0,1 cc	Os frangos 8 e 9 ndquiriram a sspiriquetoze.

Serie U **Versuche ueber die Konservierung des Immunizierungsvermoegens der Vaccine 1 Jahr nach ihrer Bereitung**

TIER GEWICHT 600 800 GRMS.	DOSE DER VACCINE 1 JAHR (SUBKUTANE EINSPRITZUNG.)	1 MONAT NACH DER VACCINATION INJIZIERTE DOSE VON VIRULENTEM BLUTE.	RESULTAT
Huhn n. 1 Huhn n. 2 Huhn n. 3 Huhn n. 4 Huhn n. 5 Huhn n. 6 Huhn n. 7	1 cc	0,1 cc	Keines dieser Tiere erkrankte.
Huhn n. 8 Zeuge Hunh n. 9 Zeuge	0 cc	0,1 cc	Die Hühner 8 und 9 erkrankten an Spirochätose.

Serie V **Verificação da rezistencia dos frangos vaccinados a infeção pelos argas**

ANIMAL PEZO ENTRE 600 800 GRMS.	QUATIDADE DE VACINA. INJEÇÃO SUB-CUTANEA	PRAZO ENTRE A VACINAÇÃO E A PICADA DOS ARGAS INFETADOS	REZULTADO
Frango 1 Frango 2 Frango 3 Frango 4	1 cc	1 mez.	Nenhum destes frangos adquiriu a espiroquetoze.
Frango 5 Frango 6 Frango 7 Frango 8		3 mezes.	
Frango 9 Testemunha Frango 10 Testemunha	0 cc	Picados pelos mesmos argas que os frangos 1 a 4.	Todos estes frangos adquiriram a espiroquetoze.
Frango 11 Testemunha Frango 12 Testemunha		Picados pelos mesmos argas que os frangos 5 a 8	

Seri V **Feststellung des Wiederstandes der geimpften Huehner gegen die Infektion durch den Biss der Argaszecken**

TIER GEWICHT 600 —800 GRMS.	DOSE DER VACCINE SUBKUTANE EINSPRITZUNG	ZEITRAUM ZWISCHEN VACCINATION UND ANSETZEN DER ARGASZECKEN.	RESULTAT
Huhn 1 Huhn 2 Huhn 3 Huhn 4	1 cc	1 Monat.	Keines dieser Tiere erkrankte.
Huhn 5 Huhn 6 Huhn 7 Huhn 8		3 Monate.	
Hnhn 9 Zeuge Huhn 10 Zeuge	0 cc	Von denselben Argas gebissen wie Hühner 1 bis 4.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose.
Huhn 11 Zeuge Huhn 12 Zeuge		Von denselben Argas gebissen wie Hühner 5 bis 8.	

BIBLIOGRAFIA

ARAGÃO, H. B. .... 1905 Ensaios de sorotherapia nas molestias produzidas por germens não cultivaveis.
Teze de doutouramento.

DUNGER, V. .... 1900 Beitrag sur Immunitätslehre.

LEVADITI .... 1904 Contribution à l'étude de la spirillose des poules.
Ann. de l'Institut Pasteur. Tome 18. N. 3.

MARCHOUX & SIMOND 1906 Études sur la fièvre jaune.
Ann. de l'Institut Pasteur. Tome 20, N. 1.

NEISSER & LUBOWSKI 1901 Lässt sich durch Einspritzung der agglutinierten Typhusbacillen eine Agglutininproduction hervorrufen?
Centralbl. für Bakteriologie. Bd. 30, No. 13.

PFEIFER, R. & FRIEDBERGER, E. ..... 1902 Ueber das Wesen der Bakterienvirulenz nach Untersuchungen an Cholera-Vibrionen.
Berliner klinische Wochenschrift No. 50, 51.

REHNS, J. .... 1901 L'immunité active et les Toxines diphtériques surcompensées.
Compt. Rend. Soc. Biol. p. 141.

SACHS, H. .... 1901 Immunisirungsversuche mit Immunkörperbeladenen Erythrocyten.
Centralbl. für Bakteriologie. Bd. 30, N. 13.

THEILER, A. .... 1905 Maladies des Troupeaux dans l'Afrique du Sud.
Bull. de l'Institut Pasteur. Tome III, No. 15.